

## 一氧化氮 (Nitric oxide, NO) 含量测定试剂盒说明书

### 微量法 100 管/96 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 测定意义:

NO (Nitric Oxide, NO) 广泛分布于生物体内神经、循环、呼吸、消化、泌尿生殖等系统中, 特别是神经组织中较丰富。它作为细胞间及细胞内的信息物质, 发挥信号传递的作用, 是一种新型的生物信使分子, 在机体的生理、病理过程中起着重要的作用。

#### 测定原理:

NO 在体内或水溶液中极易氧化生成  $\text{NO}_2^-$ , 在酸性条件下,  $\text{NO}_2^-$  与重氮盐磺酸胺生成重氮化合物, 进一步与萘基乙烯基二胺偶合, 产物在 550nm 处有特征吸收峰, 测定其吸光值, 可以计算 NO 含量。

#### 组成:

产品名称	SG004-100T/96S	Storage
提取液: 液体	100ml	4°C
试剂一: 液体	6ml	4°C避光
试剂二: 液体	6ml	4°C避光
说明书	一份	

试剂二: 液体 6ml×1 瓶, 4°C避光保存。(用之前 60°C加热震荡 15min)

#### 自备仪器和用品:

天平、研钵或匀浆器、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、蒸馏水。

#### 样品处理:

1. 组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积(ml)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1ml 提取液) 进行冰浴匀浆。10000g, 4°C离心 15min, 取上清, 置冰上待测。
2. 细菌、真菌: 按照细胞数量 ( $10^4$  个): 提取液体积 (ml) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1ml 提取液), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 然后 10000g, 4°C, 离心 15min, 取上清置于冰上待测。
3. 体液和培养液等其它液态样品: 直接测定。

#### 测定步骤和操作表:

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 550nm。



## 2、操作表

	空白管	测定管
样品 (μl)		100
提取液 (μl)	100	
试剂一 (μl)	50	50
试剂二 (μl)	50	50
混匀, 室温静置 15min, 于微量石英比色皿/96 孔板, 测定 A <sub>550</sub> , ΔA=A 测定-A 空白		

### NO 含量计算:

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线回归方程为:  $y = 0.016x - 0.0103$ ,  $R^2 = 0.9986$

#### 1、组织样品:

(1) 按样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{NO 含量 } (\mu\text{mol/g 鲜重}) &= (\Delta A + 0.0103) \div 0.016 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \times 10^{-3} \\ &= 0.125 \times (\Delta A + 0.0103) \div W \end{aligned}$$

(2) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{NO 含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) &= (\Delta A + 0.0103) \div 0.016 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \times 10^{-3} \\ &= 0.125 \times (\Delta A + 0.0103) \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

#### 2、细胞:

$$\begin{aligned} \text{NO 含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) &= (\Delta A + 0.0103) \div 0.016 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \times 10^{-3} \\ &= 0.125 \times (\Delta A + 0.0103) \div \text{细胞数量 (万个)} \end{aligned}$$

#### 3、其他样品:

$$\begin{aligned} \text{NO 含量 } (\mu\text{mol/L}) &= (\Delta A + 0.0103) \div 0.016 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \\ &= 125 \times (\Delta A + 0.0103) \end{aligned}$$

V 反总: 反应总体积, 0.2ml; V 样: 反应中样品体积, 0.1ml; V 样总: 加入提取液体积, 1ml; W: 样品质量, g; Cpr: 蛋白浓度, mg/ml

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线回归方程为:  $y = 0.008x - 0.0103$ ,  $R^2 = 0.9986$

#### 1、组织样品:

(1) 按样本重量计算

$$\begin{aligned} \text{NO 含量 } (\mu\text{mol/g 鲜重}) &= (\Delta A + 0.0103) \div 0.008 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \times 10^{-3} \\ &= 0.25 \times (\Delta A + 0.0103) \div W \end{aligned}$$

(2) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{NO 含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) &= (\Delta A + 0.0103) \div 0.008 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \times 10^{-3} \\ &= 0.25 \times (\Delta A + 0.0103) \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

#### 2、细胞:

$$\text{NO 含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = (\Delta A + 0.0103) \div 0.008 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \times 10^{-3}$$

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



---

$$= 0.25 \times (\Delta A + 0.0103) \div \text{细胞数量 (万个)}$$

3、其他样品:

$$\text{NO 含量 } (\mu\text{mol/L}) = (\Delta A + 0.0103) \div 0.008 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 250 \times (\Delta A + 0.0103)$$

V 反总: 反应总体积, 0.2ml; V 样: 反应中样品体积, 0.1ml; V 样总: 加入提取液体积, 1ml; W: 样品质量, g; Cpr: 蛋白浓度, mg/ml

